

## اثر سطوح متفاوت نانوذرات آهن جیره بر رشد و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی (*Cyprinus carpio*) انگشت‌قد کپور معمولی

کمیل قلی‌زاده اصلی<sup>۱</sup>، مجیدرضا خوش‌خلق<sup>۲\*</sup>، بهرام فلاحتکار<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: آبان ۹۵

تاریخ پذیرش: بهمن ۹۵

### چکیده

این مطالعه با هدف بررسی افزودن سطوح متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی به جیره غذایی و تاثیر آن بر رشد و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی انگشت‌قد کپور معمولی انجام شد. ۱۵۰ قطعه ماهی با وزن متوسط  $6/14 \pm 0/10$  گرم به مدت ۸ هفته با جیره‌های حاوی صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و  $200 \text{ mg/Kg}$  نانوذره آهن صفر ظرفیتی تغذیه شدند. نتایج نشان می‌دهد که مقادیر شاخص‌های وزن نهایی، وزن به دست آمده، طول نهایی، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن، درصد رشد روزانه، کارایی غذا و کارایی پروتئین و چربی در تیمار  $150 \text{ mg/Kg}$  نانوذره آهن اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان دادند ( $P < 0/05$ ). شاخص کبدی در تیمار صفر دارای بیشترین مقدار بود ( $P < 0/05$ ). بیشترین مقادیر گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در تیمار  $150 \text{ mg/Kg}$  و کمترین آن‌ها در تیمار صفر مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). تعداد گلبول‌های سفید و شاخص MCV در تیمار  $150 \text{ mg/Kg}$  دارای کمترین مقدار بود ( $P < 0/05$ )؛ اما مقادیر MCHC، MCH، مونوسیت و ائوزوفیل در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری را در بر نداشتند ( $P > 0/05$ ). بر اساس نتایج، افزودن نانوذرات آهن صفر ظرفیتی در غلظت  $150 \text{ mg/Kg}$  که به دلیل افزایش نسبت سطح به حجم دارای اثرگذاری بیشتری در مقایسه با هم نوع خود در مقیاس بزرگ‌تر هستند، در جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی توصیه می‌شود.

### واژگان کلیدی: آهن صفر ظرفیتی، شاخص‌های رشد، گلبول‌های قرمز، جیره غذایی.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.

۲- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.

۳- استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.

\* نویسنده مسئول: [majidreza@guilan.ac.ir](mailto:majidreza@guilan.ac.ir)

## مقدمه

طوری که، در طی فرآیند احیا مصرف ۰/۳۶ گرم بر لیتر از نانوذرات آهن صفر ظرفیتی موجب حذف نیترات در غلظت‌های ۲۵ تا ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از محیط آبی شد (Khoshkalam and Rahnemaei, 2014). در پژوهشی دیگر، استفاده از غلظت ۵ گرم بر لیتر نانوذرات آهن صفر ظرفیتی باعث حذف ۳۷ تا ۹۹ درصدی فلزاتی چون نیکل، کادمیوم، روی، نقره، کروم و سرب از محیط آبی شد (Geiger et al., 2009).

برای توسعه صنعت آبزی‌پروری علاوه بر نیازمندی به نوآوری، توجه به دو نکته تغذیه و مدیریت کیفی آب بیش از بقیه موارد ضرورت دارد. تهیه غذا یکی از مهم‌ترین مسائل در پرورش آبزیان به شمار می‌آید و هزینه غذا به طور معمول ۳۰ تا ۶۰ درصد کل هزینه لازم برای سیستم‌های پرورش آبزیان را شامل می‌شود (فلاح‌تکار، ۱۳۹۴). بنابراین به منظور افزایش بازده تولید تعیین نیازهای غذایی آبزیان ضروری است (Hung et al., 1987; Deng, 2000). همچنین توجه به کمیت و کیفیت غذا در کنار طراحی اصولی و کاهش هزینه تولید می‌تواند موجب موفقیت در پرورش آبزیان شود (فلاح‌تکار، ۱۳۹۴). از این

با رشد روز افزون جمعیت و ایجاد تغییر در ذائقه مردم به سمت استفاده از محصولات غذایی سالم و باکیفیت، صنعت آبزی‌پروری به دلیل سودآوری و ارزش غذایی گوشت ماهی نسبت به دیگر پروتئین‌های حیوانی رشد بسیار سریعی داشته است (FAO, 2003) و برآورد می‌شود که تا چند سال آینده، میزان تولیدات حاصل از تکثیر و پرورش مصنوعی آبزیان با صید و بهره‌برداری آن‌ها از منابع طبیعی برابری کند (فلاح‌تکار، ۱۳۹۴). از آنجا که سهم صنعت آبزی‌پروری در ایجاد امنیت غذایی، تجارت و اشتغال در طول دهه‌های گذشته افزایش یافته است، به همین دلیل برای گسترش این صنعت نیاز به ورود فناوری‌های جدید خواهد بود (Jia et al., 2001). فناوری نانو دارای پتانسیل استفاده در صنعت پرورش آبزیان و غذاهای دریایی است (Handy et al., 2012). جایگزین کردن فناوری‌های نوین مانند نانوفناوری به جای سیستم‌های سنتی باعث افزایش پیشرفت در صنعت آبزی‌پروری می‌شود. همچنین استفاده از نانوفناوری و زیست‌فناوری در صنعت آبزی‌پروری، برای جلوگیری از تولید آلودگی در محیط آبی بسیار موثر است (Bhattacharya et al., 2015). به

رو پرورش موفق آبزیان نیازمند استفاده از خوراک کامل و کارآمد با ترکیب بهینه است که باید تمام ترکیبات تغذیه‌ای ضروری مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی را برای سلامتی و رشد سریع ماهی فراهم آورد (Cho et al., 2005; Aprodu et al., 2012). مواد معدنی بسته به نقش زیستی خود می‌توانند در گروه‌های مختلفی همچون عناصر ضروری، غیرضروری و سمی طبقه‌بندی شوند (Stancheva et al., 2013). در این طبقه‌بندی، فلزاتی مثل آهن، روی و مس در گروه عناصر ضروری قرار می‌گیرند چرا که نقش‌های مهمی در سیستم‌های زیستی ایفا می‌کنند (Mendil et al., 2005). موجودات زنده قادر به سنتز عناصر معدنی نیستند و این نیازمندی بدن را از طریق خوراک تامین می‌کنند. بنابراین فقیر بودن جیره‌های غذایی از این مواد با مشکلات زیادی همراه بوده، اختلالات مهمی مانند آسیب‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را سبب می‌شود. آهن یکی از عناصر ضروری در جیره آبزیان است که به عنوان مکمل معدنی با مواد مختلف مانند سولفات ترکیب شده، به جیره ماهی اضافه می‌شود. آهن به عنوان یک ریزمغذی نقش بسیار مهمی در عملکرد اندام‌ها و بافت‌های جانوران، از جمله ماهیان دارد (Andersen et al., 1997). آهن جزئی از بخش هم مولکول هموگلوبین، سیتوکروم و پراکسیدازها است (Hardison, 1998)؛ همچنین در روندهای تنفسی شامل اکسیداسیون، احیا و انتقال الکترون نیز موثر است (Coates, 1975; Kawano et al., 2002). برای حفظ مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین و قطر گلبول‌ها، وجود این عنصر ضروری است. آهن جزء ترکیب تمام یاخته‌های بدن است و به ویژه در کبد و طحال ذخیره شده، برای ساخت گلبول‌های قرمز به مغز استخوان انتقال می‌یابد. آهن برای سوخت و ساز ویتامین‌های گروه B نیز ضروری است. از دیگر وظایف آهن در بدن، می‌توان به افزایش مقاومت ماهی در برابر استرس و عملکرد صحیح آنزیم‌ها اشاره کرد (قبادی و همکاران، ۱۳۹۲). کمبود آهن در گونه‌های مختلفی از ماهیان موجب کم‌خونی (Gatlin and Wilson, 1986) و یا کاهش نرخ تفریح تخم می‌شود (Hirao et al., 1955). اشکال مختلفی از ترکیبات دارای آهن در جیره غذایی آبزیان استفاده می‌شود که متداول‌ترین آن‌ها سولفات آهن است. اما مصرف این ماده در سطوح متفاوت توسط

آزمایشی مصرف نانوذرات اکسید آهن به مقدار ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم غذا به همراه پروبیوتیک (*Lactobacillus casei*) به میزان ۱۰CFU در هر گرم غذا، باعث بهبود شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه‌ای در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) شد (محمدی و توکمه‌چی، ۱۳۹۴). در بررسی دیگری که به منظور مقایسه اثرات نانوذرات اکسید آهن و سولفات آهن بر روی ماهی کپور هندی روهو (*Labeo rohita*) انجام شد، مقدار تثبیت عنصر آهن در عضله و همچنین میزان گلبول قرمز و سطح هموگلوبین خون ماهی تغذیه شده با نانوذرات اکسید آهن، نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود (Behera et al., 2014). همچنین مصرف بیش از اندازه نانوذرات آهن باعث ایجاد آسیب‌های جدی در هیپاتوسیت‌های کبدی مانند لیپیدوز، التهاب و بروز برهم ریختگی نظم لوپول‌های کبدی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود (حاجی رحیمی و همکاران، ۱۳۹۴)؛ به این دلیل، خطر تغییرات در شاخص‌های خون‌شناسی، ویژگی‌های بیوشیمیایی پلاسما و اندام‌های داخلی ماهی بر اثر استفاده از نانوذرات، باید مورد بررسی قرار گیرد (Shaw and Handy, 2011). با انجام ماهی حوض *Carassius auratus gibelio* (Pan et al., 2009)، ماهی کپور معمولی (Sakamoto and Yone,) *Cyprinus carpio* (1978) و گربه ماهی کانالی *Ictalurus punctatus* (Lim et al., 1996) باعث افزایش رشد آن‌ها نسبت به تیمار شاهد نشد. امروزه با بهره‌گیری از نانو فناوری در صنعت آبی‌پروری، اشکال جدید و متنوعی از مواد معدنی به ویژه آهن در مدل‌های متفاوت مانند نانوذرات آهن صفر ظرفیتی (خنثی) و نانوذرات اکسید آهن، در مقیاس‌های مختلف تولید می‌شود. نانوذرات آهن به دلیل ویژگی‌های فیزیوشیمیایی مانند جذب سطحی، اکسیداسیون و احیا به عنوان حامل‌های دارویی در درمان سلول‌های سرطانی کاربردهای گسترده‌ای دارند (Prijic et al., 2010) و می‌توانند قابلیت در دسترس بودن آهن را نسبت به دیگر اشکال آن در انسان و موش افزایش دهند؛ علاوه بر آن عنصر آهن با مقدار پروتئین موجود در بافت‌های جانوری در ارتباط است (Barton and Edwards, 2000). آهن اهمیت و نقش به‌سزایی در رشد باکتری‌ها و میکروارگانیسم‌ها در بدن میزبان به عهده دارد (Tukmechi et al., 2011)، بنابراین می‌تواند رشد و تکثیر پروبیوتیک‌ها را در روده تقویت کند. به همین منظور در

پژوهش‌هایی که در زمینه استفاده از آهن در جیره غذایی برخی از گونه‌ها انجام شد، میزان دقیق این ماده برای رشد آن‌ها مشخص شد. به عنوان مثال، مقدار آهن مورد نیاز به ازای هر کیلوگرم غذا برای ماهی سیم (*Abramis brama*) ۱۵۰ میلی‌گرم است (Sakamoto and Yone, 1976). همچنین برای مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) ۱۷۰ میلی‌گرم (Nose and Arai, 1979)، گربه‌ماهی کانالی ۳۰ میلی‌گرم (Gatlin and Wilson, 1986) و ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) ۶۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم آهن در هر کیلوگرم غذا برآورد شده است (Anderson et al., 1996).

#### مواد و روش‌ها

##### ماهی و محیط آزمایش

این آزمایش به مدت ۸ هفته در سالن آکواریوم دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان واقع در شهرستان صومعه‌سرا صورت گرفت. بچه ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی به منظور فرآیند سازش‌دهی، در ۱۵ عدد آکواریوم ۱۵۰ لیتری با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر توزیع شدند (۱۰ عدد ماهی در هر آکواریوم) و بر اساس اشتها، به مدت ۲ هفته از غذای تجاری بچه ماهی کپور معمولی شرکت فرادانه (SFC) در ۴ نوبت تغذیه کردند. پس از سازگاری ماهیان

در بین ماهیان پرورشی، ماهی کپور معمولی به دلیل مقاومت زیاد در مقابل نوسان‌های محیطی و استفاده از محدوده وسیع مواد غذایی قابل دسترس، در اکثر مناطق دنیا قابل پرورش است (Salehi, 2003; Tokur et al., 2006)، به طوری که این ماهی دارای رتبه سوم در بین گونه‌های پرورشی آبزیان است (FAO, 2014). کپور معمولی از تغذیه‌کنندگان فرصت‌طلب است که می‌تواند از هر منبع غذایی قابل دسترس استفاده کند و آن را مورد مصرف قرار دهد (Sanchez, 1970). برای پرورش مناسب این ماهی، باید

فرآیند پایدار کردن نانوذرات آهن صفر ظرفیتی نانواهن مورد نیاز از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان خریداری شد. برای جلوگیری از اکسید شدن نانوذرات آهن صفر ظرفیتی، این ذرات با مواد آنتی‌اکسیدان ترکیب و در مرحله بعد به جیره اضافه شد. در ابتدا مقدار ۲/۵ گرم نانواهن صفر ظرفیتی در ۴۲۰ میلی‌لیتر اتانول حل شد و مقدار ۰/۸۳ گرم ویتامین C به محلول اضافه شد. ترکیب این مواد زیر گاز آرگون و به دور از گاز اکسیژن در مدت ۳ تا ۴ ساعت بر روی دستگاه شیکر صورت پذیرفت. در مرحله بعد قسمت‌های مختلف سوسپانسیون به وجود آمده به وسیله دستگاه سانتریوفیوژ (Hettich, آلمان) از هم تفکیک شد. نانواهن رسوب کرده در لوله آزمایش جدا و سه مرتبه توسط اتانول شسته شد. در مرحله آخر نانوذرات آهن صفر ظرفیتی در ظرف پتری‌دیش ریخته شد و در دستگاه آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شود (Sreeja et al., 2015). بعد از انجام این مراحل نانوذرات آهن صفر ظرفیتی در معرض اکسیژن اکسید نمی‌شود. استفاده از ویتامین C در آزمایش، به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن در آب است (Pardoe et al., 2001) و همچنین افزایش

با شرایط آزمایش و به منظور تیمار بندی، ۲۴ ساعت قبل عمل غذادهی قطع شد و ماهیان با ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک بیهوش شدند (قیاسی و فلاحتکار، ۱۳۹۴). برای سنجش وزنی از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و برای سنجش طولی از خط‌کشی با دقت ۱ میلی‌متر استفاده شد. بچه ماهیان کیور معمولی با میانگین وزنی  $6/14 \pm 0/10$  گرم و طول متوسط  $7/32 \pm 0/12$  سانتی‌متر، به طور تصادفی با تراکم ۱۰ عدد در هر آکواریوم توزیع شدند. میزان دمای آب آکواریوم‌ها به وسیله بخاری برقی در محدوده  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. مقدار متوسط pH آب آکواریوم‌ها  $7/12 \pm 0/03$  و مقدار اکسیژن محلول در آب  $6/82 \pm 0/14$  میلی‌گرم در لیتر بود. میزان نور تابشی بر هر آکواریوم  $705 \pm 21$  لوکس بود و دوره نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و به وسیله لامپ مهتابی تنظیم شد (جاوید رحمدل و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین تعویض آب آکواریوم‌ها به طور منظم و با حجم ۷۰ لیتر و با فاصله زمانی ۲۴ ساعته صورت گرفت. برای جلوگیری از شوک دمایی طی سیفون کردن، از آب ذخیره‌ای که دارای دمای یکسان با آب آکواریوم‌ها بود، استفاده شد.

جذب نانوذرات آهن را در بدن به دنبال دارد (Frei and Lawson, 2008).

### طراحی آزمایش و ساخت جیره غذایی

برای انجام مطالعه حاضر، پنج تیمار غذایی با سه تکرار در نظر گرفته شد و از جیره غذایی تجاری بچه ماهی کپور معمولی شرکت فرادانه SFC (شهرکرد، ایران) به عنوان جیره پایه استفاده شد (جدول ۱). برای تهیه جیره‌های آزمایشی، به ازای هر کیلوگرم غذا، مقادیر صفر (Nano Iron 0, NI<sub>0</sub>)، ۵۰ (NI<sub>50</sub>)، ۱۰۰ (NI<sub>100</sub>)، ۱۵۰ (NI<sub>150</sub>) و ۲۰۰ (NI<sub>200</sub>) میلی‌گرم نانوذرات آهن صفر ظرفیتی (US Research Nanomaterials، آمریکا) به جیره پایه اضافه شد (جدول ۲ و شکل‌های ۱ و ۲). قبل از افزودن نانوذرات آهن به جیره، مقدار آهن کل جیره تجاری فرادانه که به ازای هر کیلوگرم غذا ۶۳ میلی‌گرم بود، به وسیله دستگاه طیف سنج جذب اتمی (AAAnalyst 700 Atomic Absorption Spectroscopy)

Perkin Elmer، آمریکا) در پارک علم و فناوری شهر رشت اندازه‌گیری شد.

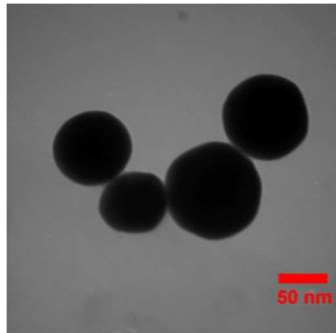
بعد از ترکیب کردن ۵ غلظت‌های متفاوت از نانوذرات آهن صفر ظرفیتی با وزن مشخصی از جیره پایه تجاری آسیاب شده، مخلوط غذایی با آب ترکیب شد و در داخل میکسر به صورت خمیر درآمد. در مرحله بعد، خمیر به دست آمده در داخل دستگاه چرخ گوشت خانگی قرار گرفت و از چشمه‌هایی به قطر ۲ میلی‌متر عبور داده شد. برای خشک کردن رشته‌های غذایی از باد مستقیم پنکه استفاده شد. رشته‌های خشک شده به پلت‌هایی برابر با اندازه دهان ماهیان تبدیل شد و داخل فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در طول آزمایش، مقدار غذای داده شده به بچه ماهی کپور معمولی بر اساس اشتها بود و عمل غذایی در ۴ نوبت با فاصله زمانی ۴ ساعته در ساعات ۱۰، ۱۴، ۱۸ و ۲۲ صورت گرفت.

جدول ۱: ویژگی‌های جیره تجاری بچه‌ماهی کپور معمولی شرکت فرادانه (SFC)

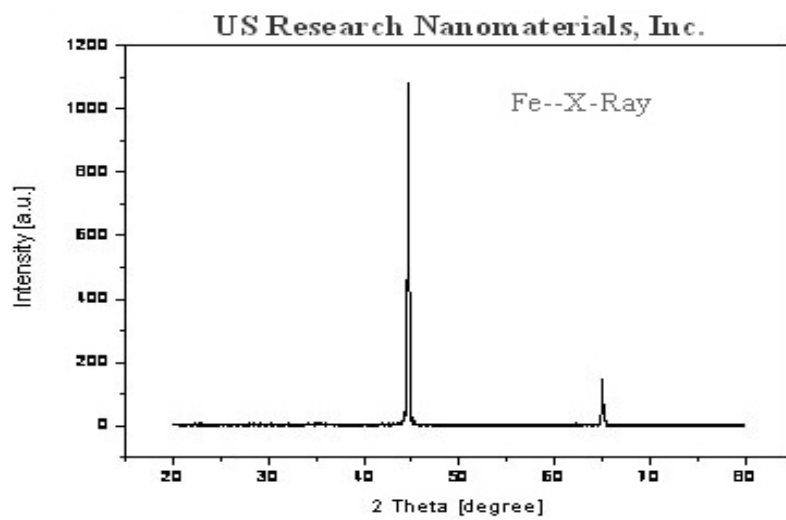
نوع	اندازه (mm)	پروتئین (%)	چربی (%)	رطوبت (%)	خاکستر (%)
اکستروود	۲/۰±۳/۲	۴۵/۵	۷	۴/۲۰	۸/۱۸

جدول ۲: ویژگی‌های نانوذرات آهن صفر ظرفیتی استفاده شده در پژوهش حاضر

چگالی (g/cm <sup>3</sup> )	تراکم ذرات (g/cm <sup>3</sup> )	شکل ظاهری	سطح ویژه (m <sup>2</sup> /g)	مقیاس (nm)	رنگ	درصد خلوص
۷/۹۰	۰/۴۵	کروی	۸-۱۴	۳۵-۴۵	سیاه	۹۹/۵



شکل ۱: تصویر نانوذرات آهن صفر ظرفیتی در مقیاس ۵۰ نانومتر توسط میکروسکوپ الکترونی (TEM)



شکل ۲: اندازه‌گیری مقیاس نانوذرات آهن صفر ظرفیتی توسط دستگاه XRD (اشعه ایکس)



### اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

در ابتدا و در طول مدت ۸ هفته مطالعه، هر

دو هفته یک بار زیست‌سنجی انجام شد. وزن

نهایی ماهیان به وسیله ترازوی دیجیتال با

دقت ۰/۰۱ گرم و همچنین طول نهایی آن‌ها با

خط‌کشی به دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

سپس شاخص‌های رشد مانند وزن نهایی

(FW)، طول نهایی (TL)، افزایش وزن

(WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش

وزن بدن (BWI)، افزایش وزن روزانه

(ADG)، شاخص وضعیت (CF)، نسبت کارایی

پروتئین (PER)، نسبت کارایی چربی (LER)،

نرخ بازماندگی (SR) و شاخص‌های تغذیه‌ای

مانند مقدار غذای مصرفی (FI) و کارایی غذا

(FE) از طریق رابطه‌های ۱ تا ۱۰ محاسبه شد

(فلاح‌تکار، ۱۳۹۴). به منظور اندازه‌گیری

شاخص‌های کبدی (HSI) و احشایی (VSI)،

از هر تیمار ۹ قطعه ماهی با ضربه به سر کشته

شد (Granstrom, 2003) و توسط اسکالپل

تشریح شد. سپس کبد و احشاء ماهی‌ها تخلیه

و توزین شد. در نهایت، شاخص‌های ذکر شده

از طریق رابطه‌های ۱۱ و ۱۲ محاسبه شد

(Turchini et al., 2003).

رابطه ۱:

$$FCR = F / W$$

F: مقدار غذای مصرف شده (گرم)؛ W: وزن تر به دست آمده (گرم).

رابطه ۲:

$$FI \text{ (g/fish)} = F_T / N$$

F<sub>T</sub>: کل غذای مصرفی در طول دوره (گرم)؛ N: تعداد ماهی.

رابطه ۳:

$$WG \text{ (g)} = W_f - W_i$$

W<sub>i</sub>: وزن اولیه (گرم)؛ W<sub>f</sub>: وزن نهایی (گرم).

رابطه ۴:

$$SGR \text{ (%/day)} = [(\ln W_f - \ln W_i) / t] \times 100$$

W<sub>i</sub>: وزن اولیه (گرم)؛ W<sub>f</sub>: وزن نهایی (گرم)؛ t: طول دوره پرورش (روز).

رابطه ۵:

$$BWI \text{ (%) } = [(W_f - W_i) / W_i] \times 100$$

W<sub>i</sub>: وزن اولیه (گرم)؛ W<sub>f</sub>: وزن نهایی (گرم).

رابطه ۶:

$$ADG \text{ (%) } = [(W_f - W_i) / (W_f - t)] \times 100$$

W<sub>i</sub>: وزن اولیه (گرم)؛ W<sub>f</sub>: وزن نهایی (گرم)؛ t: طول دوره پرورش (روز).

رابطه ۷:

$$CF = (W / L^3) \times 100$$

W: وزن ماهی (گرم)؛ L: طول کل (سانتی‌متر).

رابطه ۸:

$$PER = W / P$$

و متوسط حجم هر گلبول قرمز (MCV) بودند، از هر تکرار آزمایش، از ۴ قطعه بچه ماهی کپور معمولی، پس از بیهوش کردن با غلظت ۳۰۰ ppm پودر گل میخک، با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری آغشته به ۱۰ میکرولیتر هیپارین، از ناحیه ساقه دمی به میزان ۱/۵ میلی‌لیتر خون‌گیری به عمل آمد. برای شمارش تعداد گلبول‌های قرمز، نمونه خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول Lewis رقیق‌سازی شد و تعداد گلبول‌های قرمز در ۵ مربع میانی متوسط لام نئوبار شمارش و در عدد ۱۰۰۰۰۰ ضرب شد. عدد به دست آمده بیانگر تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی‌متر مکعب خون است. برای شمارش گلبول‌های سفید در یک میلی‌متر مکعب نیز نمونه خون به نسبت ۱ به ۵۰ با محلول Lewis رقیق شد و تعداد گلبول‌های سفید در ۴ مربع بزرگ کناری لام نئوبار شمارش و در ضریب ۵۰ ضرب شد. برای تعیین درصد افتراقی، پس از تهیه گسترش خونی، از روش رنگ‌آمیزی گیمسا با تکیه بر خواص متفاوت رنگ‌پذیری انواع مختلف گلبول‌های سفید استفاده شد. سپس تعداد هر نوع از گلبول‌های سفید شامل لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل، ائوزوفیل از میان ۱۰۰

W: وزن تر به دست آمده (گرم)؛ P: پروتئین مصرف شده (گرم).

رابطه ۹:

$$LER = W/L$$

W: وزن تر به دست آمده (گرم)؛ L: چربی مصرف شده (گرم).

رابطه ۱۰:

$$SR (\%) = (N_f / N_i)$$

N<sub>f</sub>: تعداد ماهیان در انتهای دوره؛ N<sub>i</sub>: تعداد ماهیان در ابتدای دوره.

رابطه ۱۱:

$$HSI (\%) = (W_L / W_B) \times 100$$

W<sub>L</sub>: وزن کبد (گرم)؛ W<sub>B</sub>: وزن بدن (گرم).

رابطه ۱۲:

$$VSI (\%) = (W_V / W_B) \times 100$$

W<sub>V</sub>: وزن کبد (گرم)؛ W<sub>B</sub>: وزن بدن (گرم).

#### اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

بعد از پایان دوره آزمایش و به منظور تعیین شاخص‌های خونی که شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، غلظت هموگلوبین (Hb)، درصد هماتوکریت (Hct)، شمارش افتراقی گلبول سفید، متوسط میزان هموگلوبین به ازای هر گلبول قرمز (MCH)، متوسط غلظت هموگلوبین به ازای هر گلبول قرمز (MCHC)

بعد از اندازه‌گیری و محاسبه مقادیر گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین، شاخص‌های خونی MCV، MCH و MCHC از طریق رابطه‌های ۱۳ تا ۱۵ محاسبه شدند (Houston, 1990).

رابطه ۱۳:

$$MCV (\text{fL}) = [\text{Hct} (\%) / \text{RBC} (10^6 \cdot \text{mm}^{-3})] \times 10$$

رابطه ۱۴:

$$MCH (\text{pg}) = [\text{Hb} (\text{g/dL}) / \text{RBC} (10^6 \cdot \text{mm}^{-3})] \times 10$$

رابطه ۱۵:

$$MCHC (\text{g/dL}) = [\text{Hb} (\text{g/dL}) / \text{Hct} (\%)] \times 100$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در بررسی آماری داده‌ها، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (One-Sample Kolmogorov-Smirnov) برای ارزیابی نرمال بودن داده‌ها و از آزمون Levene برای بررسی همگنی واریانس‌ها استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA One-Way) استفاده شد و اختلاف بین میانگین‌ها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای Tukey بررسی شد. سطح معنی‌دار در این آنالیز  $P < 0.05$  بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) صورت پذیرفت.

گلبول سفید شمارش شده، مشخص شد (Houston, 1990).

اندازه‌گیری غلظت هموگلوبین (Hb) با استفاده از رنگ‌سنجی (Colorimetric) با معرف درابکین (سیانومت هموگلوبین) انجام شد. در این روش مقدار ۲۰ میکرولیتر از خون با ۵ میلی‌لیتر محلول درابکین در لوله آزمایش مخلوط شد و بعد از مدت ۱۰ دقیقه نگهداری در محیط تاریک، میزان جذب نور توسط نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Unico، آمریکا) در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و به وسیله منحنی استاندارد مقدار هموگلوبین بر اساس گرم بر دسی‌لیتر تعیین شد. برای تعیین درصد هماتوکریت، لوله‌های مویین (لوله هماتوکریت) به مقدار دو سوم از خون ماهی پر شد و سپس انتهای این لوله‌ها با قرار گرفتن در خمیر هماتوکریت مسدود شد. در ادامه لوله‌های هماتوکریت در دستگاه میکروسانتریفیوژ (Nuve، ترکیه) با سرعت ۱۴۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد و بعد از اتمام سانتریفیوژ با استفاده از خط‌کش مخصوص، طول ستون گلبول قرمز نسبت به طول کل خون اندازه‌گیری شد و مقدار هماتوکریت بر حسب درصد به دست آمد (Rehulka, 2000).

## نتایج

بازماندگی در تمام تیمارها ۱۰۰ درصد بود ( $P > 0.05$ ).

نتایج شاخص‌های خونی در جدول ۴ ارائه شده است. بعد از پایان دوره آزمایش، اختلاف معنی‌داری در مقدار گلبول‌های قرمز در بین تیمار  $NI_{150}$  با سایر تیمارها مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). همچنین اختلاف معنی‌داری در مقدار گلبول‌های سفید بین تیمارهای  $NI_0$  و  $NI_{150}$  با تیمارهای  $NI_{100}$ ،  $NI_{150}$  و  $NI_{200}$  وجود داشت ( $P < 0.05$ ). مقدار هماتوکریت در بین تیمار  $NI_{150}$  با تیمارهای  $NI_0$ ،  $NI_{50}$  و  $NI_{100}$  دارای تفاوت معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). مقدار هموگلوبین در بین تیمار  $NI_{150}$  با تیمارهای  $NI_0$  و  $NI_{100}$  دارای تفاوت معنی‌داری بود ( $P < 0.05$ ). شاخص  $MCV$  در بین تیمارهای  $NI_{200}$  و  $NI_{100}$  با تیمار  $NI_{150}$  دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). مقدار نوتروفیل در بین تیمار  $NI_{50}$  با تیمارهای  $NI_{100}$ ،  $NI_{150}$  و  $NI_{200}$  اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). میزان لنفوسیت در بین تیمار  $NI_{150}$  با تیمارهای  $NI_0$ ،  $NI_{50}$  و  $NI_{100}$  دارای تفاوت معنی‌داری بود ( $P < 0.05$ ). در مقدار  $MCH$ ،  $MCHC$ ، مونوسیت و ائوزوفیل، بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد در جدول ۳ ارائه شده است. بعد از گذشت ۸ هفته از شروع آزمایش، اختلاف معنی‌داری در وزن نهایی و افزایش وزن بین تیمار  $NI_{150}$  با سایر تیمارها و تیمارهای  $NI_{50}$ ،  $NI_{100}$  و  $NI_{200}$  با تیمار  $NI_0$  مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). در شاخص نرخ رشد ویژه اختلاف معنی‌داری بین تیمار  $NI_{150}$  با سایر تیمارها و تیمار  $NI_{100}$  با تیمار  $NI_0$  مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). در شاخص‌های درصد افزایش وزن بدن و افزایش وزن روزانه تفاوت معنی‌داری بین تیمار  $NI_{150}$  با سایر تیمارها وجود داشت ( $P < 0.05$ ). بین تیمارها تفاوت معنی‌داری در شاخص وضعیت مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). بیشترین و کمترین مقدار غذای مصرفی به ترتیب در تیمارهای  $NI_{50}$  و  $NI_{200}$  مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). در شاخص‌های کارایی غذا و نسبت کارایی پروتئین و چربی میان تیمار  $NI_{150}$  با سایر تیمارها اختلافات معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). بین تیمار  $NI_0$  با تیمارهای  $NI_{100}$ ،  $NI_{150}$  و  $NI_{200}$  اختلاف معنی‌داری در شاخص کبدی مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). بین تیمارها تفاوت معنی‌داری در شاخص احشایی مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). نرخ

جدول ۳: تاثیر سطوح متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی بر شاخص‌های رشد و تغذیه در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پس از ۸ هفته آزمایش (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد)

شاخص‌های رشد	سطوح نانوذرات آهن صفر ظرفیتی (میلی گرم در کیلوگرم غذا)				
	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	صفر
وزن اولیه (g)	۶/۰ $\pm$ ۱۹/۰۶	۶/۰ $\pm$ ۱۱/۰۵	۶/۰ $\pm$ ۰۸/۰۴	۶/۰ $\pm$ ۲۵/۰۶	۶/۰ $\pm$ ۱۰/۰۳
وزن نهایی (g)	۲۲/۰ $\pm$ ۳۰/۷۳ <sup>b</sup>	۲۷/۰ $\pm$ ۶۳/۱۸ <sup>a</sup>	۲۲/۰ $\pm$ ۲۵/۳۶ <sup>b</sup>	۲۲/۰ $\pm$ ۴۴/۵۵ <sup>b</sup>	۲۰/۰ $\pm$ ۰۳/۱۰ <sup>c</sup>
افزایش وزن (g)	۱۶/۰ $\pm$ ۱۱/۸۵ <sup>b</sup>	۲۱/۰ $\pm$ ۵۱/۱۷ <sup>a</sup>	۱۶/۰ $\pm$ ۱۴/۴۱ <sup>b</sup>	۱۶/۰ $\pm$ ۲۱/۵۱ <sup>b</sup>	۱۳/۰ $\pm$ ۹۳/۱۴ <sup>c</sup>
طول اولیه (cm)	۷/۰ $\pm$ ۴۲/۰۴	۷/۰ $\pm$ ۲۶/۰۶	۷/۰ $\pm$ ۲۶/۰۳	۷/۰ $\pm$ ۳۴/۰۶	۷/۰ $\pm$ ۳۰/۱۲
طول نهایی (cm)	۱۰/۰ $\pm$ ۶۰/۳۹ <sup>b</sup>	۱۱/۰ $\pm$ ۵۷/۱۵ <sup>a</sup>	۱۰/۰ $\pm$ ۴۱/۱۰ <sup>b</sup>	۱۰/۰ $\pm$ ۵۵/۱۵ <sup>b</sup>	۱۰/۰ $\pm$ ۲۸/۰۸ <sup>b</sup>
نرخ رشد ویژه (/day)	۲/۰ $\pm$ ۲۸/۰۸ <sup>bc</sup>	۲/۰ $\pm$ ۶۹/۰۱ <sup>a</sup>	۲/۰ $\pm$ ۳۱/۰۴ <sup>b</sup>	۲/۰ $\pm$ ۲۸/۰۲ <sup>bc</sup>	۲/۰ $\pm$ ۱۲/۰۲ <sup>c</sup>
افزایش وزن بدن (%)	۲۶۰/۱۸ $\pm$ ۶۱/۸۳ <sup>b</sup>	۳۵۲/۴ $\pm$ ۰۳/۶۰ <sup>a</sup>	۲۶۵/۸ $\pm$ ۵۵/۸۴ <sup>b</sup>	۲۶۰/۷ $\pm$ ۱۴/۰۱ <sup>b</sup>	۲۲۸/۳ $\pm$ ۴۵/۸۳ <sup>b</sup>
رشد روزانه (%)	۴/۰ $\pm$ ۶۴/۳۳ <sup>b</sup>	۶/۰ $\pm$ ۲۸/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۰ $\pm$ ۷۳/۱۵ <sup>b</sup>	۴/۰ $\pm$ ۶۴/۱۲ <sup>b</sup>	۴/۰ $\pm$ ۰۷/۰۶ <sup>b</sup>
شاخص وضعیت	۱/۰ $\pm$ ۸۷/۱۴	۱/۰ $\pm$ ۷۸/۰۸	۱/۰ $\pm$ ۹۶/۰۲	۱/۰ $\pm$ ۹۰/۰۴	۱/۰ $\pm$ ۸۴/۰۳
غذای مصرفی (g/Fish)	۱۰۹/۰ $\pm$ ۲/۰۰ <sup>b</sup>	۱۲۰/۰ $\pm$ ۴/۰۰ <sup>a</sup>	۱۲۰/۰ $\pm$ ۴/۰۰ <sup>a</sup>	۱۲۸/۰ $\pm$ ۸/۰۰ <sup>a</sup>	۱۲۰/۰ $\pm$ ۴/۰۰ <sup>a</sup>
کارایی غذا (%)	۱۴/۰ $\pm$ ۷۵/۷۸ <sup>b</sup>	۱۷/۰ $\pm$ ۸۶/۱۴ <sup>a</sup>	۱۳/۰ $\pm$ ۴۰/۳۴ <sup>bc</sup>	۱۲/۰ $\pm$ ۵۸/۳۹ <sup>c</sup>	۱۱/۰ $\pm$ ۵۶/۱۲ <sup>c</sup>
کارایی پروتئین	۰/۰ $\pm$ ۳۳/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۰ $\pm$ ۴۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰ $\pm$ ۳۰/۰۰ <sup>bc</sup>	۰/۰ $\pm$ ۲۸/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰ $\pm$ ۲۵/۰۰ <sup>c</sup>
کارایی چربی	۲/۰ $\pm$ ۱۰/۱۰ <sup>b</sup>	۲/۰ $\pm$ ۵۵/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۰ $\pm$ ۹۱/۰۴ <sup>bc</sup>	۱/۰ $\pm$ ۷۹/۰۵ <sup>c</sup>	۱/۰ $\pm$ ۶۵/۰۱ <sup>c</sup>
شاخص کبدی* (%)	۰/۰ $\pm$ ۱۳/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰ $\pm$ ۱۲/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۰ $\pm$ ۱۳/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۰ $\pm$ ۱۶/۰۱ <sup>ab</sup>	۰/۰ $\pm$ ۲۱/۰۲ <sup>a</sup>
شاخص احشایی* (%)	۱۱/۰ $\pm$ ۲۸/۴۳	۱۰/۰ $\pm$ ۶۹/۴۰	۱۰/۰ $\pm$ ۸۶/۴۳	۱۱/۰ $\pm$ ۰۷/۲۷	۱۰/۰ $\pm$ ۹۶/۴۱
نرخ بازماندگی (%)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

\*: n=۹ (تعداد نمونه ماهی برای سنجش شاخص‌های کبدی و احشایی در هر تیمار). داده‌های دارای اختلاف معنی‌دار با حروف متفاوت مشخص شده‌اند (P<۰/۰۵).

جدول ۴: تاثیر سطوح متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی بر شاخص‌های خونی در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پس از ۸ هفته آزمایش (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد)

شاخص‌های خونی	سطوح نانوذرات آهن صفر ظرفیتی (میلی‌گرم در کیلوگرم غذا)				
	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	صفر
تعداد گلبول قرمز ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	۱۸۰/۰ $\pm$ ۰/۰۰ <sup>b</sup>	۲۰۲/۲ $\pm$ ۵۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۷۰/۵ $\pm$ ۶۶/۱۷ <sup>b</sup>	۱۶۳/۱ $\pm$ ۵۰/۱۵ <sup>bc</sup>	۱۴۹/۴ $\pm$ ۸۳/۰۵ <sup>c</sup>
تعداد گلبول سفید ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	۳۴/۲ $\pm$ ۵۰/۰۰ <sup>b</sup>	۲۵/۰ $\pm$ ۵۰/۴۹ <sup>b</sup>	۳۲/۱ $\pm$ ۳۳/۱۶ <sup>b</sup>	۵۳/۴ $\pm$ ۶۶/۴۷ <sup>a</sup>	۵۲/۳ $\pm$ ۸۳/۹۸ <sup>a</sup>
هما توکریت (%)	۴۲/۷۵ $\pm$ ۰/۲۴ <sup>ab</sup>	۴۵/۵۰ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>a</sup>	۳۹/۸۳ $\pm$ ۱/۳۲ <sup>b</sup>	۳۷/۵۰ $\pm$ ۰/۲۸ <sup>bc</sup>	۳۴/۶۶ $\pm$ ۱/۰۱ <sup>c</sup>
هموگلوبین (g/dL)	۱۰/۴۰ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>ab</sup>	۱۱/۳۵ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۹/۸۰ $\pm$ ۰/۳۴ <sup>b</sup>	۹/۳۶ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>abc</sup>	۸/۶۱ $\pm$ ۰/۲۸ <sup>c</sup>
MCV (fL)	۲۳۷/۱ $\pm$ ۲۵/۲۴ <sup>a</sup>	۲۲۴/۰ $\pm$ ۵۰/۴۹ <sup>b</sup>	۲۳۳/۰ $\pm$ ۰/۸۶ <sup>a</sup>	۲۲۹/۱ $\pm$ ۰/۶۰ <sup>ab</sup>	۲۳۰/۱ $\pm$ ۸۳/۳۰ <sup>ab</sup>
MCH (pg)	۵۷/۱ $\pm$ ۵۰/۰۰	۵۵/۵۰ $\pm$ ۰/۴۹	۵۷/۰ $\pm$ ۱۶/۴۳	۵۷/۰ $\pm$ ۰/۲۸	۵۷/۰ $\pm$ ۰/۴۹
MCHC (g/dL)	۲۴/۰ $\pm$ ۲۵/۲۴	۲۴/۰ $\pm$ ۵۰/۴۹	۲۴/۰ $\pm$ ۱۶/۱۶	۲۴/۰ $\pm$ ۶۶/۱۶	۲۴/۰ $\pm$ ۵۰/۰۰
لنفوسیت (%)	۷۵/۱ $\pm$ ۲۵/۲۴ <sup>ab</sup>	۷۸/۰ $\pm$ ۵۰/۴۹ <sup>a</sup>	۷۳/۰ $\pm$ ۵۰/۰۰ <sup>b</sup>	۶۹/۰ $\pm$ ۵۰/۵۷ <sup>b</sup>	۷۰/۱ $\pm$ ۱۶/۳۶ <sup>b</sup>
نوتروفیل (%)	۲۰/۰ $\pm$ ۲۵/۲۴ <sup>b</sup>	۱۷/۰ $\pm$ ۵۰/۴۹ <sup>b</sup>	۲۰/۱ $\pm$ ۸۳/۴۲ <sup>b</sup>	۲۵/۰ $\pm$ ۳۳/۴۳ <sup>a</sup>	۲۴/۰ $\pm$ ۵۰/۵۷ <sup>ab</sup>
مونوسیت (%)	۴/۰ $\pm$ ۰/۴۹	۳/۰ $\pm$ ۵۰/۴۹	۴/۰ $\pm$ ۰/۲۸	۴/۰ $\pm$ ۵۰/۲۸	۴/۰ $\pm$ ۸۳/۳۲
اُتوزوفیل (%)	۰/۰ $\pm$ ۵۰/۴۹	۰/۰ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰ $\pm$ ۳۳/۱۶	۰/۰ $\pm$ ۶۶/۱۶	۰/۰ $\pm$ ۵۰/۴۹

\*: n=9 (تعداد نمونه ماهی برای سنجش شاخص‌های خونی در هر تیمار).

داده‌های دارای اختلاف معنی‌دار با حروف متفاوت مشخص شده‌اند ( $P < 0.05$ ).

## بحث

پروتئین و چربی و همچنین کارایی غذا در تیمار NI<sub>0</sub>، نشان دهنده اثرگذاری عنصر آهن در جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی بر کیفیت غذا و شاخص‌های رشد است، به طوری که مصرف آهن در غلظت مناسب توسط ماهیان باعث افزایش رشد در آن‌ها می‌شود (Rigos et al., 2010). در همین راستا، Roeder و Roeder (۱۹۶۶) در یکی از اولین

بر اساس نتایج به دست آمده، افزودن نانوذرات آهن صفر ظرفیتی به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از جیره غذایی باعث بیشترین افزایش وزن و طول در بچه‌ماهی انگشت‌قد کپور معمولی شد. کمترین مقادیر شاخص‌های رشد مانند نرخ رشد ویژه، افزایش وزن بدن، افزایش وزن روزانه، نسبت کارایی

گزارش‌ها، به بررسی اثرات سولفات آهن بر ارزش غذایی و شاخص ایمنی ماهی‌ها پرداختند و مشخص شد که سطح آهن در جیره، رشد شمشیر ماهی (*Xiphophorus helleri*) و ماهی پلاتی (*Xiphophorus maculatus*) را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در مطالعه دیگری که بر روی ماهی کپور هندی روهم انجام شد، استفاده از ۰/۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات آهن و ۰/۵۴ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات اکسید آهن در جیره غذایی، باعث افزایش رشد در این ماهی‌ها شد و علاوه بر آن کیفیت لاشه ماهی تغذیه شده با نانوذرات اکسید آهن افزایش یافت (Behera et al., 2014). همچنین در طی یک بررسی ۶۰ روزه، اثرات نانوذرات آهن بر شاخص‌های زیستی کپورماهیان و ماهیان خاویاری مورد مطالعه قرار گرفت و افزایش نرخ رشد در آن‌ها مشاهده شد (Prochorov et al., 2002). در مطالعه دیگری، با افزودن سطوح مختلف نانوذرات آهن و ۶۰ میلی‌گرم سولفات آهن در هر کیلوگرم غذای پایه، رشد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که جیره حاوی ۳۰ میلی‌گرم نانوآهن بیشترین تاثیر را بر روی رشد و تغذیه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشت. علاوه بر این

بیشترین مقادیر افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۶۰ میلی‌گرم سولفات آهن مشاهده شد (قبادی و همکاران، ۱۳۹۲). با آزمایشی که روی میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) انجام شد، تاثیر استفاده از نانوذرات اکسید شده آهن بر عملکرد رشد، ترکیبات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بدن، مورد بررسی قرار گرفت و استفاده از سطح ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم از این نانوذرات در هر کیلوگرم از غذا باعث افزایش میزان رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و درصد بازماندگی شد (Srinivasan et al., 2016). نتایج این آزمایش‌ها نشان دهنده نقش عنصر آهن به عنوان یک ریزمغذی مهم در عملکرد اندام‌ها و بافت‌های جانوران، از جمله آبزیان است (Andersen et al., 1997).

در این مطالعه و آزمایش‌های مشابه می‌توان به توانایی ماده معدنی آهن، در سنتز و ابقاء پروتئین در بدن آبزیانی مانند ماهی‌های *Liang et al., Ctenopharyngodon idella* (2012)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Kalantarian et al., 2013) و فیل‌ماهی *Huso huso* (Mohseni et al., 2014) اشاره کرد. همچنین نقش ریزمغذی‌های ضروری در سوخت و ساز

با توجه به این که قسمت اعظمی از جذب عنصر آهن در مخاط روده صورت می‌گیرد (حاجی رحیمی و همکاران، ۱۳۹۴)، تاثیر این مواد بر دستگاه گوارش نیازمند مطالعات بیشتری است.

ماده معدنی آهن در به وجود آمدن گلبول‌های قرمز خون نقش موثری دارد (Chu et al., 2007)؛ به طوری که در آزمایش‌هایی که بر روی انسان و جانوران از جمله ماهی‌ها انجام شده (Kawatsu, 1972; Sakamoto and Yone, 1978; Gatlin and Wilson, 1997; Andersen et al., 1986) این فرضیه به اثبات رسیده است. همچنین ترکیب آهن با ویتامین C در متابولیسم آن در بدن جاندار بسیار موثر است (Desjardins, 1985; Hilton et al., 1989) و موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون می‌شود (Barros et al., 2002). نتایج به دست آمده از بررسی شاخص‌های خونی نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در تعداد گلبول‌های قرمز بین تیمار NI<sub>150</sub> با سایر تیمارها بود. تیمار NI<sub>0</sub> به دلیل عدم استفاده از نانوذرات آهن صفر ظرفیتی در جیره، دارای کمترین مقدار گلبول قرمز در خون بود. در همین رابطه، طی یک آزمایش که بر روی ماهی کپور هندی ره‌و صورت گرفت

چربی در ماهی و میگو به اثبات رسیده است (Engle et al., 2000). بیشترین مقدار کارایی چربی در تیمار NI<sub>150</sub> نشان دهنده تاثیرگذاری حد مجاز مصرف آهن در سنتز چربی است. در آزمایشی، افزودن ۳۰-۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات آهن در جیره غذایی میگوی بزرگ آب شیرین نقش زیادی در تولید اسیدهای چرب MUFA و PUFA در بر داشت (Srinivasan et al., 2016). شاخص کبدی در تیمار NI<sub>0</sub> نسبت به سایر تیمارهایی که از نانوذرات آهن استفاده کرده بودند، بیشتر و دارای اختلاف معنی‌دار بود. همچنین کمترین مقدار شاخص کبدی در تیمار NI<sub>150</sub> دیده شد. از آنجا که مصرف بیش از اندازه نانوذرات آهن باعث بروز بیماری لیپیدوز کبدی می‌شود (حاجی رحیمی و همکاران، ۱۳۹۴)، کاهش شاخص کبدی در تیمارهای تغذیه شده با این نانوذرات و بالا بودن این شاخص در تیمار NI<sub>0</sub>، نشان دهنده این است که مصرف نانوذرات آهن صفر ظرفیتی تا سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی بچه ماهی کپور معمولی، باعث رهاسازی مواد ذخیره‌ای از کبد به جریان خون شده و کاهش شاخص کبدی را در بر داشته است. شاخص احشایی در هیچ کدام از تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری نبود.



تیمارهایی که از جیره‌های حاوی نانوذرات اکسید آهن و سولفات آهن تغذیه کردند، دارای بیشترین تعداد گلبول قرمز خون بودند (Behera et al., 2014). همچنین در مطالعه دیگری، استفاده توام نانوذرات آهن با پروبیوتیک باعث افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد (Rather et al., 2011).

در مطالعه‌ای که بر روی ماهی کپور معمولی انجام شد، تزریق ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۶ میلی‌گرم در لیتر نانوآهن اکسید شده به بدن ماهی، سبب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون نسبت به تیمار شاهد بعد از مدت ۱۶۸ ساعت شد (رضایی و همکاران، ۱۳۹۲). در پژوهشی دیگر، مصرف ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات آهن توسط ماهی حوض سبب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون شد (Das et al., 2014). همچنین مصرف اشکال مختلف آهن در ترکیبات متیونین آهن (FeM) و سولفات آهن (FeS) به ترتیب در مقادیر ۲۰ و ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم توسط گربه ماهی کانالی سبب افزایش مقدار گلبول قرمز و هموگلوبین خون شد (Lim et al., 1996).

تیمار NI<sub>150</sub> در شاخص‌های هموگلوبین و هماتوکریت با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود. تیمار NI<sub>0</sub> نیز دارای کمترین مقدار در این شاخص‌ها بود که نشان دهنده نقش موثر ماده معدنی آهن در شکل‌گیری سلول‌های خونی است. شاخص‌های سلولی عوامل مفیدی در واکنش‌های حاصل از تنش‌های محیطی هستند که در نهایت سبب تغییرات ریخت‌شناختی و توزیع سلولی در خون موجودات زنده می‌شوند (Srivastava and Choudhary, 2010). به طور مثال، قرارگیری ماهی تیلاپیای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) به مدت ۹۶ ساعت در معرض نانوذرات اکسید آهن سبب افزایش شاخص‌های MCV و MCH شد (Karthikeyeni et al., 2013). البته مصرف بیش از حد آهن توسط آبزیان ممکن است تجمع بیش از حد، ایجاد سمیت و تخریب سلول‌های خونی را در بر داشته باشد (Andersen et al., 1997) و یا موجب اثرگذاری بر شاخص‌های خونی نشود که مطالعات انجام شده توسط Ye و همکاران (۲۰۰۷)، Rigos و همکاران (۲۰۱۰)، Adel و خارا (۲۰۱۴) و Saravanan و همکاران (۲۰۱۵) بیانگر این مطلب است. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در شاخص‌های MCH و MCHC نشان دهنده تخریب نشدن

لنفوسیت‌ها و افزایش نسبت نوتروفیل‌ها شود (Pickering, 1981). از آنجایی که نقش نوتروفیل در خون، فاگوسیتوز عوامل مضر است (رزم‌آرا و همکاران، ۱۳۹۲) و همچنین عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در مقدار مونوسیت و ائوزوفیل که نقش‌های مختلفی مانند بیگانه‌خواری، ترشح هیستامین و ایجاد حالت ضدحساسیت و به طور کلی مقاومت در برابر عوامل بیگانه را ایفا می‌کنند (Houston, 1990)، می‌توان این نتیجه را گرفت که استفاده از نانوذرات آهن صفر ظرفیتی تا سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی، بچه ماهی کپور معمولی را در این محدوده سنی دچار آسیب سلولی نمی‌کند.

#### تشکر و قدردانی

بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از ریاست محترم، هیئت علمی گروه شیلات، کارشناسان و کارکنان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان و همچنین از آقایان علی رازگردانی شراهی، بلال مولودی‌نیا و احمد ولی‌زاده اعلام می‌نماییم.

سلول‌های خونی در معرض نانوذرات آهن تا سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است. بیشترین مقدار نوتروفیل در تیمار NI<sub>50</sub> و کمترین مقدار آن در تیمار NI<sub>150</sub> مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار لنفوسیت در تیمارهای NI<sub>150</sub> و NI<sub>200</sub> و کمترین آن در تیمار NI<sub>50</sub> وجود داشت. تغییر در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید می‌تواند شاخصی برای ارزیابی ایمنی بدن در مواجهه با مواد آلاینده باشد (Adedeji et al., 2009) که طبق مطالعات انجام شده، در ابتدا ماهی برای مقابله با آهن اضافی بدن به ویژه در مقیاس نانوذرات، تعداد گلبول‌های سفید خون را افزایش می‌دهد، اما با افزایش جذب این مواد تعداد گلبول‌های سفید روند کاهشی پیدا می‌کند (Saravanan et al., 2011; Karthikeyeni et al., 2013; Adel and Khara, 2014; Saravanan et al., 2015). با مطالعه Chen و همکاران (۲۰۰۶) مشخص شد که افزایش درگیری سلول‌ها در فرآیند ایمنی، موجب کاهش سلول‌های خونی می‌شود. در بسیاری از موارد، تنش‌های فیزیولوژیکی می‌تواند منجر به کاهش تعداد

## منابع

- جاوید رحمدل ک.، علاف نویریان ح.، فلاحتکار ب. و باباخانی آ. ۱۳۹۵. اثر جایگزینی آرد ماهی با کنجاله آفتابگردان بر رشد، شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی پلاسما در بچه ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۴(۱): ۶۷-۵۰.
- حاجی رحیمی ا.، فرخی ف. و توکمه‌چی ا. ۱۳۹۴. بررسی تاثیر نانوذرات اکسید آهن و روی بر بافت کبد و عضله در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۸(۳): ۳۰۶-۲۹۳.
- رزم‌آرا پ.، پیکان حیرتی ف. و درافشان س. ۱۳۹۲. اثر نانوذرات نقره بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی گربه‌ماهی رنگین‌کمان (*Pangasius hypophthalmus*). مجله سلول و بافت، ۵(۳): ۲۷۲-۲۶۳.
- رضایی ف.، جمیلی ش.، احتشامی ف.، ماشینچیان مرادی ع. و شهیدیان نامگی م. ۱۳۹۲. بررسی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن بر تعداد گلبول‌های قرمز ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). فصل‌نامه علمی محیط زیست جانوری، ۶(۳): ۲۰۲-۱۹۷.
- فلاحتکار ب. ۱۳۹۴. تغذیه و جیره‌نویسی آبزیان. انتشارات دانشگاه جامع علمی و کاربردی. ۳۳۴ ص.
- قبادی ش.، رجبی اسلامی ه.، حسینی فرد س. م. و پلنگی ل. ۱۳۹۲. بررسی اثرات سطوح مختلف نانوذره آهن (Fe) بر فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصل‌نامه علوم تکثیر و آبی‌پروری، ۱(۱): ۸۲-۶۲.
- قیاسی س. و فلاحتکار ب. ۱۳۹۴. تغییرات رشد، میزان مصرف غذا و کورتیزول پلاسما در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پس از تزریق کورتیزول. مجله علمی شیلات ایران، ۲۴: ۱۳-۱.
- محمدی ن. و توکمه‌چی ا. ۱۳۹۴. تاثیر استفاده توام نانوذرات آهن و پروبیوتیک *Lactobacillus casei* بر شاخص‌های رشد و تجمع پروبیوتیک در روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۰(۱): ۵۳-۴۷.
- Adedeji O.B., Adeyemo O.K. and Agbede S.A. 2009. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*). African Journal of Biotechnology, 8(16): 3940-3946.
- Adel A. and Khara H. 2014. The effects of different dietary vitamin C and iron levels on the growth, hematological and immunological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fingerlings.

- Iranian Journal of Fisheries Sciences, 15: 886–897.
- Andersen F., Lorentzen M., Waagbo R. and Maage A. 1997.** Bioavailability and interactions with other micronutrients of three dietary iron sources in Atlantic salmon, *Salmo salar*, smolts. *Aquaculture Nutrition*, 3: 239–346.
- Anderson F., Maage A. and Julshman K. 1996.** An estimation of dietary requirements of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquaculture*, 24: 41–47.
- Aprodu I., Vasile A., Gurau G., Ionescu A. and Paltenea E. 2012.** Evaluation of nutritional quality of the common carp (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. *Food Technology*, 36: 61–73.
- Barros M.M., Pezzato L.E., Kleemann G.K., Hisano H. and Rosa G.J. 2002.** Levels of vitamin C and iron for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31: 2149–2156.
- Barton J.C. and Edwards C.Q. 2000.** Hemochromatosis: Genetics, Pathophysiology, Diagnosis and Treatment. Cambridge University Press, New York. 616P.
- Behera T., Swain P., Rangachrulu P.V. and Samanta M. 2014.** Nano-Fe as feed additive improves the hematological and immunological parameters of fish, *Labeo rohita* H. *Journal Applied Nanoscience*, 4: 687–694.
- Bhattacharya S., Preeti S.H. and Gupta U. 2015.** Nanotechnology research, innovation and commercialisation in India: Contemporary status. *ISTIP Policy Bulletin*, 12: 1–20.
- Chen Z., Meng H., Xing G., Chen C., Zhao Y., Jia G. and Wan L. 2006.** Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology Letters*, 163(2): 109–120.
- Cho S. H., Lee S. M. and Lee J. H. 2005.** Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under optimum salinity and temperature conditions. *Aquaculture Nutrition*, 11: 235–240.
- Chu J.H., Chen S.M. and Huang C.H. 2007.** Effect of dietary iron concentrations on growth, hematological parameters, and lipid peroxidation of soft-shelled turtles, *Pelodiscus sinensis*. *Aquaculture*, 269: 532–537.
- Coates M.L. 1975.** Hemoglobin function in the vertebrates: An evolutionary model. *Journal of Molecular Evolution*, 6: 285–307.
- Das A., Prakash C., Babu S., Sharma A., Chanu T.I., Paul L. and Verma A.K. 2014.** Dietary iron requirement of goldfish

- (*Carassius auratus*) Fry. Journal of Aquaculture Research, 66: 1–8.
- Deng K. 2000.** Artificial reproduction and early life stages of the green sturgeon (*Acipenser medirostris*). M.Sc. Theses, University of California, California. 63P.
- Desjardins L.M. 1985.** The effect of iron supplementation on diet rancidity and on the growth and physiological response of rainbow trout. M.Sc. Thesis, University of Guelph, Ontario, Canada. 174P.
- Engle T.E., Spears J.W. and Armstrong T.A. 2000.** Effects of dietary copper source and concentration on carcass characteristics and lipid and cholesterol metabolism in growing and finishing steers. Journal of Animal Science, 78: 1053–1059.
- FAO. 2003.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. www.fao.org.
- FAO. 2014.** Fishery and Aquaculture Statistics Yearbook. FAO Publications, Italy. 103P.
- Frei B. and Lawson S. 2008.** Vitamin C and cancer revisited. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(32): 11037–11038.
- Gatlin M. and Wilson R.P. 1986.** Characterization of iron deficiency and the dietary iron requirement of fingerling channel catfish. Aquaculture, 52: 191–198.
- Geiger C. 2009.** Environmental Applications of Nanoscale and Microscale Reactive Metal Particles. American Chemical Society, Washington, DC. 320P.
- Granstrom D.E. 2003.** Agricultural (non biomedical) animal research outside the laboratory: A review of guidelines for institutional animal care and use committees. Institute for Laboratory Animal Research, 44: 206–210.
- Handy R.D., Cornelis G., Fernandes T., Tsyusko O., Decho A., Sabo-Attwood T., Metcalfe C., Stevens J.A., Klaine S.J., Koelmans A.A. and Horne N. 2012.** Ecotoxicity test methods for engineered nanomaterials: Practical experiences and recommendations from the bench. Environmental Toxicology and Chemistry, 31: 15–31.
- Hardison R. 1998.** Hemoglobins from bacteria to man: Evolution of different patterns of gene expression. The Journal of Experimental Biology, 201: 1099–1117.
- Hilton J.W. 1989.** The interactions of vitamins, minerals and diet composition in the diet of fish. Aquaculture, 79: 223–244.
- Hirao S., Yamada J. and Kikuchi R. 1955.** Relation between chemical constituents of rainbow trout eggs and the hatching rate.

- Nippon Suisan Gakkaishi, 21: 240–243.
- Houston A. 1990.** Blood and circulation. P: 273–322. In: Shreck C.B. and Moyle P.B. (Eds.). *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.
- Huber D.L. 2005.** Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. *Small*, 1(5): 482–501.
- Hung S.S.O., Lutes B.P. and Conte F.S. 1987.** Carcass proximate composition of juvenile white surgeon (*Acipenser transmontanus*). *Journal of Physiology and Biochemistry*, 88: 269–272.
- Jahanshahi M. and Myrnya S. 2011.** Nanomaterials toxicity, health and environmental concerns. Noshirvani Babol Industrial University Press. 436P.
- Jia J., Wijkstrom U., Subasinghe R. and Barg U. 2001.** Aquaculture development beyond 2000: Global prospects keynote address II. P: 9–12. In: Subasinghe R.P., Bueno P.B., Phillips M.J., Hough C., Mcgladdery S.E. and Arthur J.R. (Eds.). *Aquaculture in the Third Millennium*. NACA, Bangkok and FAO, Rome, Italy.
- Kalantarian S.H., Rafiee G.H., Farhangi M. and Mojazi B.A. 2013.** Effect of different levels of dietary vitamin C and potassium on growth indices biochemical composition and some whole body minerals in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 4: 1–8.
- Karthikeyeni S., Siva Vijayakumar T., Vasanth S., Ganesh A., Manimegalai P. and Subramanian P. 2013.** Biosynthesis of Iron oxide nanoparticles and its haematological effects on fresh water fish (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Academia and Industrial Research*, 1(10): 645–649.
- Kawano T., Pinontoan R., Hosoya H. and Muto S. 2002.** Monoamine-dependent production of reactive oxygen species catalyzed by pseudoperoxidase activity of human hemoglobin. *Journal of Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66: 1224–1232.
- Kawatsu H. 1972.** Studies on the anaemia of fish: V. Dietary iron deficient anaemia in brook trout *Salvelinus fontinalis*. *Bulletin of Freshwater Fish Research Laboratory*, 22: 59–66.
- Khoshkalam E. and Rahnamaei R. 2014.** Mechanism of nitrate reduction by iron nanoparticles in the presence of MnO<sub>2</sub>. *Iran Nano Safety Congress*, Tehran, Iran.

- Liang J.J., Liu Y.J., Yang Z.N., Tian L.X., Yang H.J. and Liang G.Y. 2012.** Dietary calcium requirement and effects on growth and tissue calcium of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition*, 18: 544–550.
- Lim C., Sealey W.M. and Klesius P.H. 1996.** Iron methionine and iron sulfate as sources of dietary iron for channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27(3): 290–296.
- Mendil D., Uluozlu O.D., Hasdemir E., Tuzen M., Sari H. and Suicmez M. 2005.** Determination of trace metal levels in seven fish species in lakes in Tukat, Turkey. *Food Chemistry*, 90: 175–179.
- Mohseni M., Pourkazemi M. and Bai S.C. 2014.** Effects of dietary inorganic copper on growth performance and immune response of juvenile beluga, *Huso huso*. *Aquaculture Nutrition*, 20: 547–556.
- Nose Y. and Arai S. 1979.** Recent advances in studies on mineral nutrition of fish in Japan. P: 584–590. In: Pillary T.V.R. and Dill W.A. (Eds.). *Advances in Aquaculture*. Fishing News (Books) Ltd, Farnham, England.
- Pan L., Xie S., Zhu X., Lei W., Han D. and Yang Y. 2009.** The effect of different dietary iron levels on growth and hepatic iron concentration in juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Journal of Applied Ichthyology*, 25(4): 428–431.
- Pardoe H., Chua-Anusorn W., St. Pierre T.G. and Dobson J. 2001.** Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran or polyvinyl alcohol. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 225(1): 41–46.
- Pickering A.D. 1981.** The concept of biological stress. P: 1–10. In: Pickering A.D. (Ed.). *Stress and Fish*. Academic Press, New York.
- Prijic S., Scancar J., Romih R., Cemazar M., Bregar V.B. and Znidarsic A. 2010.** Increased cellular uptake of biocompatible superparamagnetic iron oxide nanoparticles into malignant cells by an external magnetic field. *The Journal of Membrane Biology*, 236(1): 167–179.
- Prochorov A.M., Pavlov G.V., Okpattah G.A.C. and Kaetanovich A.V. 2002.** The effect of nano-disperse form of iron on the biological parameters of fish. 10<sup>th</sup> Foresight Conference on Molecular Nanotechnology. Maryland, USA.
- Rather M.A., Sharma R. and Aklakur M. 2011.** Nanotechnology: A novel tool for aquaculture and fisheries development- A prospective mini-

- review. *Aquaculture Research*, 23: 12–25.
- Rehulka J. 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 190(1): 27–47.
- Rigos G., Samartzis A., Henry M., Fountoulaki E., Cotou E., Sweetman J., Davies S. and Nengas I. 2010.** Effects of additive iron on growth, tissue distribution, haematology and immunology of gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Aquaculture International*, 16: 1093–1104.
- Roeder M. and Roeder R.H. 1966.** Effect of iron on the growth rate of fishes. *Journal of Nutrition*, 90(66): 86–90.
- Sakamoto S. and Yone Y. 1976.** Requirement of red sea bream for dietary iron. *Fishery Research Laboratory, Kyushu University*, 3: 53–58.
- Sakamoto S. and Yone Y. 1978.** Iron deficiency symptoms of carp. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 44: 1157–1160.
- Salehi H. 2003.** Market perspective on cultured carp products in Iran, Asia Pacific Conference on Aquaculture, Bangkok, Thailand. 45P.
- Sanchez C. J. 1970.** Life history and ecology of carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus, in Elephant Butte Lake, New Mexico. M.Sc. Thesis, New Mexico State University, Mexico. 65P.
- Saravanan M., Karthika S., Malarvizhi A. and Ramesh M. 2011.** Ecotoxicological impacts of clofibric acid and diclofenac in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings: Hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological responses. *Journal of Hazard Mater*, 195: 188–194.
- Saravanan M., Suganya R., Ramesh M., Poopal R. K., Gopalan N. and Ponpandian N. 2015.** Iron oxide nanoparticles induced alterations in haematological, biochemical and ionoregulatory responses of an Indian major carp *Labeo rohita*. *Journal Nanoparticel Research*, 17(274): 1–12.
- Shaw B.J. and Handy R.D. 2011.** Physiological effects of nanoparticles on fish: A comparison of nanometals versus metal ions. *Environment International*, 37(6): 1083–1097.
- Sreeja V., Jayaprabha K.N. and Joy P.A. 2015.** Water-dispersible ascorbic-acid-coated magnetite nanoparticles for contrast enhancement in MRI. *Applied Nanoscience*, 5(1): 435–441.



- Srinivasan V., Saravana Bhavan P., Rajkumar G., Satgurunathan T. and Muralisankar T. 2016.** Effects of dietary iron oxide nanoparticles on the growth performance, biochemical constituents and physiological stress responses of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post-larvae. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(2): 170–182.
- Srivastava S. and Choudhary S.K. 2010.** Effect of artificial photoperiod on the blood cell indices of the catfish, *Clarias batrachus*. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 6(1): 22–32.
- Stancheva M., Makedonski and Petrova E. 2013.** Determination of heavy metals (Pb, Cd, as and Hg) in black sea grey mullet (*Mugil cephalus*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19: 30–34.
- Tokur B., Ozkutuk S., Atici E., Ozyurt G. and Ozyurt C.E. 2006.** Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio*), during frozen storage (-18°C), *Journal of Food Chemistry*, 99: 335–341.
- Tukmechi A., Rahmati H.R., Manaffar R. and Sheikhzadeh N. 2011.** Dietary administration of betamercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish and Shellfish Immunology*, 30(3): 923–928.
- Turchini G.M., Menasti T., Frqyland L., Orban E., Caprino F., Moretti V.M. and Valfrre F. 2003.** Effects of alternative dietary lipid sources on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Aquaculture*, 225(1): 251–267.
- Ye Ch., Liu Y. J., Mai K. and Huang J. W. 2007.** Effect of dietary iron supplement on growth, haematology and microelements of juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, 13: 471–477.



## The effect of diet different iron nanoparticle levels on growth and hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings

Komeil Gholizadeh Asli<sup>1</sup>, Majid Reza Khoshkholgh<sup>2\*</sup>, Bahram Falahatkar<sup>3</sup>

Received: November 2016

Accepted: February 2017

### Abstract

The aim of this study was to assess the effects of different doses of zero-valent iron nanoparticles in the diet of common carp fingerling on growth performance and blood parameters. 150 fish with an average initial weight of  $6.14 \pm 0.10$ g were fed one of the experimental diets for 8 weeks. The diets contained 0, 50, 100, 150 and 200 mg/Kg zero-valent iron nanoparticles. The results showed that fish were fed by the diet supplemented with 150 mg/Kg zero-valent iron nanoparticles displayed significant difference in final weight, weight gain, final length, specific growth rate, body weight increase, average daily growth, feed efficiency, protein efficiency ratio and lipid efficiency ratio ( $P < 0.05$ ). The highest amount of liver index was in zero treatment ( $P < 0.05$ ). The highest amount of red blood cells, hemoglobin level and hematocrit percent was observed in 150mg/Kg treatment and the lowest was in zero treatment ( $P < 0.05$ ). The lowest number of WBC and MCV index was in 150 mg/Kg treatment ( $P < 0.05$ ); But there was no significant difference between treatments in the values of MCV, MCH, monocytes and eosinophils ( $P > 0.05$ ). Based on the results, due to the increased surface to volume ratio, 150 mg/Kg zero-valent iron nanoparticles in the diet has more influence than larger scales, it is recommended in the diet of common carp fingerlings.

**Key words:** *Zero-Valent Iron, Growth Indices, Red Blood Cells, Diet.*

1- M.Sc. Student in Aquaculture, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

2- Associate Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

3- Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

\*Corresponding Author: [majidreza@guilan.ac.ir](mailto:majidreza@guilan.ac.ir)